Ueber einen neuen Wasser-Vibrio, der die Nitrosoindol-Reaction liefert.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde in der Medicin und Chirurgie,

welche

mit Zustimmung der hohen medicinischen Facultät

der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

am 29. September 1893

nebst den angefügten Thesen

öffentlich vertheidigen wird der Verfasser

Max Neisser,

Arzt aus Liegnitz.

Opponenten: Herr Dr. **Th. Freyhan,** Assistenzarzt am städt. Krankenhaus Friedrichshain, Berlin; Herr Dr. **R. Tebens,** Arzt.
Referendar: **A. Kurlbaum,** Stettin.

München 1893.

Druck von R. Oldenbourg.

Ueber einen neuen Wasser-Vibrio, der die Nitrosoindol-Reaction liefert.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde in der Medicin und Chirurgie,

welche

mit Zustimmung der hohen medicinischen Facultät

der

Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

am 29. September 1893

nebst den angefügten Thesen

öffentlich vertheidigen wird der Verfasser

Max Neisser,

Arzt aus Liegnitz.

Opponenten: Herr Dr. **Th. Freyhan,** Assistenzarzt am städt. Krankenhaus Friedrichshain, Berlin; Herr Dr. **R. Tebens,** Arzt.
Referendar: **A. Kurlbaum,** Stettin.

München 1893.

Druck von R. Oldenbourg.

Herrn Prof. Dr. M. Rubner,

Director des hygienischen Instituts zu Berlin,

in

dankbarer Verehrung gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535707_0269

Die Auffindung der Kommabacillen bei Cholera asiatica ist in den meisten Fällen auf der Höhe der Epidemie, wie die verschiedenartigen Beobachtungen aus früheren Epidemiejahren und aus dem vergangenen ergeben, und wie die Erfahrungen des letzten Jahres auch bei den Beobachtungen im hiesigen Institute gezeigt haben, mit keinen erheblichen Schwierigkeiten verbunden. Anders schon verhält es sich bei manchen Cholerafällen, bei denen die Heftigkeit der Krankheitserscheinungen gemildert war, wie z. B. bei der von Rumpel[1]) beschriebenen Nach-Epidemie in Hamburg. Vergeht nun aber durch Eisenbahn- und Post-Transport längere Zeit, ehe die Cholera-Dejectionen zur Untersuchung kommen, so häufen sich die Schwierigkeiten der Auffindung ungemein. Früher war man der Meinung, dass die beginnende Fäulnis sehr bald die Kommabacillen vernichte; Koch hat dieselben nach 24 Stunden in Abtrittsjauche nicht mehr gefunden. Dass aber die Kommabacillen auch unter erschwerenden Umständen, d. h. wenn die Fäulnis schon einen erheblichen Umfang angenommen hat, aufgefunden werden können, hat Gruber[2]) mittels eines Verfahrens, das eine Modification des Verfahrens von Schottelius[3]) darstellt, gezeigt.

Recht erheblichen Schwierigkeiten begegnet man vielfach bei der Auffindung von Choleravibrionen in Wasser und

1) Deutsche medic. Wochenschr., 1892, Nr. 7, S. 160.
2) Wiener medic. Wochenschr., 1887, Nr. 7, 8.
3) Deutsche medic. Wochenschr., 1885, Nr. 14.

anderen Objekten, deren Beziehung zu dem Kranken und seinen Dejecten keine ganz unmittelbare ist. Das directe Plattenverfahren ist in diesem Falle häufig genug durch den sonstigen Keimgehalt des Wassers, der bei kleinen Proben, starke Verdünnungen erfordert, in seinem Werthe beschränkt, wenngleich man heut zu Tage in der Verwerfung der Plattenmethode zur Untersuchung auf Choleravibrionen vielleicht zu weit geht. Wie aus den Experimenten, die Dr. Rehsteiner im hiesigen Institute ausgeführt hat, hervorgeht, ergibt die Plattenmethode hinsichtlich der Auffindung und Erkennung der Choleravibrionen selbst bei dichtem Wachsthum auf den Platten noch zufriedenstellende Resultate.

Immerhin aber ist man genöthigt gewesen, noch schärfere Methoden zur Auffindung der Choleravibrionen heranzuziehen. Wie die verschiedenartigen Veröffentlichungen erkennen lassen, ist man allerorts dazu übergegangen, trotz gewisser methodischer und wissenschaftlicher Bedenken, bei Prüfung von Choleradejectionen, wie auch bei der des Wassers eine sogenannte Vorcultur nach Schottelius vorauszuschicken, während das Verfahren von Buchner[1]) (der eine sterilisirte Flüssigkeit verwandte, die er durch Filtration einer 8 Tage lang bei 37° gezüchteten und dann durch Erhitzen getödteten Reincultur von Kommabacillen in Fleischwasserpeptonlösung, gewann) nur von Gruber und Schill[2]), aufgenommen und empfohlen worden ist.

Die Materialien, die man zur Vorcultur verwendet hat, sind verschiedene gewesen. Wir werden nicht fehlgehen, wenn wir annehmen, dass die Mehrzahl der Beobachter Peptonbouillon verwendet hat. Löffler[3]), Fischer[4]), Porik'lo[5]) geben Bouillon

1) Ueber die Cholerauntersuchung in Palermo. Münch. ärztl. Intelligenzbl., 1885, S. 752.

2) Centralbl. f. Bact. 1893, Bd. XIII, Nr. 23.

3) Centralbl. f. Bact., 1883, Bd. XIII, S. 384.

4) Deutsche medic. Wochenschr., 1893, Nr. 23, S. 541.

5) Wiener klin. Wochenschr., 1893, Nr. 14.

an, Arens[1]) gibt Zusatz von 1/7 Pankreasbouillon und von 0,05 bis 0,08 % Kalilauge an, Flügge[2]) und Koch[3]) schliesslich Zusatz von 1 % Pepton und 1 % Kochsalz.

Mit all diesen Vorculturen wird eine Vermehrung der Choleravibrionen bezweckt; es liegt aber in der Natur der Sache, dass man damit auch alle beweglichen, sauerstoffbedürftigen, bei Brutemperatur gedeihenden Wasserbacterien[4]) mitzüchtet, ein Umstand, der die Untersuchung wesentlich erschwert. Und gerade in letzter Zeit sind aus Wasser viele neue Vibrionen gezüchtet worden, die morphologisch und in ihren Wachsthums-Verhältnissen und -Bedingungen mehr oder minder Aehnlichkeit mit dem Cholera-Vibrio haben. Seit C. Günther[5]) im hiesigen Institute zuerst seinen V. aquatilis aus Spreewasser reingezüchtet hat, haben Weibel[6]), Bujwid[7]), Russel[8]), Fokker[9]), Löffler[10]), Kiessling[11]) aus Wasser und B. Fischer[12]) aus diarrhöischem Stuhl neue Vibrionen aufgefunden. Und Koch[13]) berichtet von etwa 12 Wasservibrionen, über die sein Laboratorium zur Zeit verfügt.

Wie häufig diese Befunde im Trinkwasser wiederkehren, lässt sich bisher nicht beurtheilen; sehr seltene Vorkommnisse scheinen sie jedoch nach den im hiesigen Institute gemachten

---

1) Münch. medic. Wochenschr., 1893, Nr. 10.

2) Zeitschr. f. Hygiene, 1893, Bd. XIV.

3) Zeitschr. f. Hygiene, 1893, Bd. XIV, Heft 2.

4) Die Literatur berichtet bisher nur von neuen Vibrionen, die auf diese Weise gefunden wurden.

5) Deutsche medic. Wochenschr., 1892, Nr. 49, S. 1124 (Orig.-Vortr. Deutsche Medicinal-Zeitg., 1892, S. 1185.)

6) Centralbl. f. Bact., 1843, Nr. 4, aus Brunnenwasser.

7) Dasselbe, 2 Arten.

8) Zeitschr. f. Hygiene, 1891, Bd. XI, S. 198, Spirillum marium aus dem Golf von Neapel.

9) Deutsche medic. Wochenschr., 1893, Nr. 7.

10) Centralbl. f. Bact., Bd. XIII, S. 384, 2 neue Arten.

11) Arb. aus d. Kaiserl. Gesundheitsamte, 1893, Bd. VIII. Aus Altonaer Wasser.

12) Deutsche medic. Wochenschr., 1893, Nr. 23, 24, 25, 26; V. helkogenes, aus diarrhöischem Stuhl.

13) a. a. O.

Erfahrungen nicht zu sein. Sie erschweren das Urtheil und halten die Diagnose oft lange Zeit im Zweifel. Und dass diese im Wasser aufgefundenen Kommaformen nicht immer leicht vom Cholera-Vibrio zu unterscheidende Dinge darstellen, geht am besten aus den Beobachtungen, die man in Altona [1]) gemacht hat, hervor.

Von einem daselbst mehrere Tage hinter einander gefundenen Kommabacillus wurde nach Prüfung im kaiserl. Gesundheitsamte [2]) erklärt, dass es wahrscheinlich der Choleravibrio sei, während sich später zeigte, dass man es mit einem ungefährlichen Saprophyten zu thun hatte. Dieser Saprophyt, Vibrio aquatilis [3]), um den es sich in dem erwähnten Falle handelte, ist zuerst im hiesigen Institute im Stralauer Wasser aufgefunden, zu einer Zeit, als Berlin von der Invasion der Cholera bedroht war, und glücklicherweise gelang es so rasch, seine Differenzirung von Cholera asiatica durchzuführen, dass Berlin von einem blinden Lärm verschont blieb.

Die Differenzirung des Vibrio aquatilis von Cholera-Vibrio ist aber immerhin leichter, als die eines neuen Vibrio's, über den ich nachstehend berichten werde und dessen Aehnlichkeit mit dem Choleravibrio eine ungemein grosse ist.

Alle bisher bekannten Vibrionen-Arten nämlich — also ausser den erwähnten auch die schon früher bekannten Vibrionen Finkler, Deneke, Metschnikoff, Miller —, mit einer Ausnahme, unterscheiden sich, nächst anderen Unterscheidungsmerkmalen, von dem Vibrio Cholerae asiaticae ganz streng durch das Fehlen der Nitroso-Indol-Reaction. Diese eine Ausnahme bildet der Vibrio Metschnikoff; nur er liefert, wie der der Cholera, in Peptonwasser 24 Stunden lang bei 37 ° gezüchtet, auf Zusatz von reiner, verdünnter Schwefelsäure die bekannte Purpur-Färbung. Aber gerade dieser Vibrio unterscheidet sich schon morpho-

1) Wallichs, Cholera in Altona. Deutsche medic. Wochenschr., 1892, Nr. 46.

2) S. o. Die Identität s. Kiessling, Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte, 1893, Bd. VIII, S. 437.

3) Hygien. Rundschau 1892. S. 430.

logisch durch seine fast halbkreisförmige Krümmung und nächstdem durch seine Pathogenität für Tauben am besten vom Cholera-Vibrio. Und, wie schon gesagt, stammt er nicht aus dem Wasser, ist auch noch nie darin gefunden worden.

Wir hatten also bisher in der richtig angestellten Indol-Reaction ein sicheres differential-diagnostisches Mittel, um den Cholera-Vibrio von allen Wasser-Vibrionen zu unterscheiden.

Es hat sich nun im filtrirten Wasser der Stralauer Werke ein Vibrio gefunden, der morphologisch dem Cholera-Vibrio sehr ähnlich ist, und unter denselben Bedingungen wie dieser die Indol-Reaction in gleicher Weise liefert. Diese Thatsache ist an sich wichtig genug, eine genauere Beschreibung des neuen Vibrios zu rechtfertigen.

Schon die Art der Auffindung war lehrreich. Ich arbeitete anfangs experimentell über den Nachweis von Cholera-Keimen in Leitungswasser. Zu dem Zwecke wurde neben anderen Experimenten auch eine Wasser-Aufschwemmung von Cholera-Vibrionen hergestellt, deren Keimgehalt pro Cubikcentimeter durch Zählplatten festgestellt wurde. Von dieser Aufschwemmung wurde einem Quantum Leitungswasser, das vorher mit 1 % Kochsalz und 1 % Pepton versetzt war, eine bestimmte Menge zugefügt. Um die Cholera-Keime wiederzufinden, wurde nach dem neuen Koch'schen Schema[1]) verfahren, nur wurde nicht, wie vorgeschrieben ist, von den Wasserkolben abgeimpft, nachdem sie 10, 15 und 20 Stunden im Brutschrank gestanden hatten, sondern es wurde hierin den Angaben anderer Autoren, die ähnliche Anreicherungs-Methoden angegeben haben (auch die anderen citiren Fischer u. s. w.), gefolgt und nach etwa 18 und 23 Stunden abgeimpft. Die so von der Oberfläche der Wasserkolben abgeimpften Proben wurden auf Agarschalen ausgestrichen, nach 24 Stunden (37 °) choleraverdächtige Colonien untersucht und bei Vibrionen-Befund in 1 % Peptonwasser (1 % Pepton, 1 % Kochsalz) übertragen. Nach 24stündigem Verweilen der Peptonwasserröhrchen im Brutschrank wurde von ihnen je eine Oese entnommen und, falls der Inhalt

1) a. a. O.

des Röhrchens auf Zusatz reiner, stark verdünnter Schwefelsäure die Indol-Reaction gab, auf Agar übertragen. Schliesslich wurde noch für weitere Sicherung der Diagnose der Thierversuch angeschlossen. Es wurde also am nächsten Tage von der frischen Agar-Cultur eine Oese entnommen, in 1 ccm steriler Bouillon gelöst und diese Menge einem Meerschwein intraperitoneal eingespritzt. Auf diese Weise wurde z. B. in Kolben mit 175 ccm Leitungswasser (versetzt mit 1 % Kochsalz und 1 % Pepton), dem nach der Zählung etwa 3 bis 4 Cholerakeime pro Cubikcentimeter Wasser zugesetzt waren, die Cholerakeime nach 23 Stunden wiedergefunden. (Vibrionen. Im Peptonwasser Indol-Reaction. Das inficirte Meerschwein zeigte starken Temperaturabfall und starb innerhalb 24 Stunden. Die Section zeigte eine frische, seröse Peritonitis. Am Darm war keine Verletzung zu entdecken. Im Exsudat wurden durch Cultur Cholera-Vibrionen nachgewiesen.) Auch in einem 2. Falle, in dem zu 180 ccm Leitungswasser (versetzt mit 1 % Kochsalz, 1 % Pepton und 0,05 % Kalilauge) etwa 20 Cholera-Keime pro Cubikcentimeter Wasser zugesetzt waren, wurden die Cholera-Keime auf diese Weise wiedergefunden.

In einem 3. Falle endlich — und der wurde der Ausgangspunkt alles Späteren — wurden die zugesetzten Cholera-Keime scheinbar auch wiedergefunden, und zwar, wie ich noch einmal bemerke, mit Hilfe der Agarschalen-Methode. Es entstand nämlich auf der Agarplatte Wachsthum wie bei Cholera, bei Zugabe von Schwefelsäure in den Peptonröhrchen, eine schöne Reaction, der angestellte Thierversuch fiel aber negativ aus. Es wurden nun weitere Untersuchungen mit dieser angeblich ungiftigen Cholera angestellt, allein schon die ersten von dem Material angelegten Gelatineplatten ergaben mit Sicherheit, dass man es nicht mit Cholera zu thun hatte. Von da an wurde der neue Vibrio in seinen Lebenseigenschaften untersucht, und zwar war die Untersuchung eine vergleichende, ein Vergleich mit dem Vibrio Cholerae. [1]) Es wurden stets gleich alte Culturen benutzt, die unter absolut gleiche Bedingungen gesetzt wurden.

1) Hamburger Cholera von dem Jahre 1892, aus dem Stuhl eines genesenen Cholera-Kranken stammend.

I. Morphologie.

Der neue Vibrio, er darf wohl nach seinem Fundort Vibrio Berolinensis genannt werden, ist ein kleines gekrümmtes Stäbchen, gewöhnlich vielleicht etwas kleiner als der Cholera-Vibrio, aber von verschiedener Grösse, morphologisch jedenfalls vom Cholera-Vibrio in nichts Wesentlichem unterschieden. Man sieht häufig 2 Vibrionen mit einem Ende an einander liegen. Fäden und spirillenartige Gebilde wurden in älteren Agarculturen selten, schlecht färbbare Insolutionsformen öfter gesehen. Die Krümmung ist etwa dieselbe, wie die des Komma-Bacillus. Im hängenden Tropfen sind Proben aus frischen Culturen sehr beweglich. Beizpräparate zeigen am einen Ende des Vibrio eine lange, in vielfachen Windungen geschwungene Geissel. Sporenbildung wurde nicht gesehen. Nach Gram trat Entfärbung ein.

II. Wachsthum.

Der Vibrio Berolinensis wächst auf allen untersuchten Nährböden bei Zimmertemperatur (20—22° C.) und Bruttemperatur sehr gut, bei beiden Temperaturen meistens besser als Cholera, nur in der Gelatine weniger gut.

A. Feste Nährböden.

Das am meisten in die Augen fallende und deshalb wesentlichste Unterscheidungs-Merkmal des Vibrios vom Cholera-Vibrio ist sein Wachsthum auf der Gelatine-Platte. Er verflüssigt die Gelatine sehr langsam, viel langsamer als Cholera. Nur in Platten mit sehr dichtem Wachsthum tritt in mehr als einer Woche Verflüssigung ein. Die Colonien sind selbst nach 48 Stunden makroskopisch und mit der Lupe häufig genug nicht zu sehen. Mikroskopisch sind die Colonien nach 24 Stunden klein, rund, glatt, scharfrandig. Sie wachsen in allen Tiefen der Gelatineschicht, sind fast gar nicht oder fein gekörnt, sind hell durchscheinend, ohne Färbung, manchmal wie Fetttröpfchen aussehend. Gegen ihre Umgebung sehen sie manchmal leicht bläulich aus. An der Oberfläche der Gelatine können sich

die Colonien etwas ausbreiten und transparente, häutchenartige Colonien mit einer runden Colonie als Kern bilden. Sie überschreiten auch nach Tagen eine gewisse, mässige Grösse nicht. Eine Trichterbildung, die ja von vorgeschrittener Verflüssigung zeugen würde, tritt nie auf. Der Rand bleibt stets gleichmässig scharf. Die beigegebenen Photogramme zeigen den Unterschied genügend deutlich. Auf Mischplatten von Cholera und Berolinensis waren die Cholera-Colonien nach 24 Stunden grösser und auf den ersten Blick mit Sicherheit zu unterscheiden.

Auf der erstarrten Oberfläche einer in Petrischalen gegossenen Gelatineschicht ausgestrichen, zeigte der Vibrio dieselben Colonien, wie auf der ebenso hergestellten Agarschale (s. d.).

Das geringe Vermögen des Vibrios, die Gelatine zu verflüssigen, zeigt sich auch im Gelatinestich.

Gelatinestich. Ch. = Cholera. B. = Berolinensis.

Nach dem 1. Tag	Beide fast gleich, B. etwas entwickelter.
2. »	Beide fast gleich.
3. »	Stich bei beiden ziemlich gleich. Bei Ch. Anfang der Bildung der Luftblase, bei B. viel weniger.
5. »	Bei Ch. trichterförmige, etwa erbsengrosse, bei B. etwa halb so grosse Luftblase.
6. »	Trichter bei Ch. tiefer als bei B.
7. »	Trichter bei Ch. tiefer als bei B.
8. »	Luftblase bei Ch. fast doppelt so gross als bei B.
9. »	Luftblase bei Ch. etwa 1 cm tief, bei B. mehr dellenartig und etwa ½ cm tief.
11. »	Trichter bei Ch. wesentlich tiefer, als bei B.
14. »	Bei Ch. ein Trichter, der bis auf den Boden des Röhrchens reicht. Bei B. Stich weissgrau, oben halbkugelförmige, ¾ cm tiefe Delle von 1 cm Durchmesser.
17. »	Ebenso, nur weiter entwickelt.
19. »	Ebenso.

Auf gewöhnlichem Agar und Glycerin-Agar wächst der V. Berolinensis bei Zimmer- und Bruttemperatur sehr gut. Er bildet nach 24 Stunden Zimmertemperatur auf Agar einen feinen, graugelben, wenig erhabenen, durchscheinenden, leicht feucht glänzenden Rasen, der bei Bruttemperatur dichter und weniger transparent ist; d. h. also, er ist darin von Cholera-Vibrio und

vielen anderen nicht wesentlich verschieden. Auf der Oberfläche der erstarrten Agarplate ausgestrichen, bildet er Colonien, die mikroskopisch den Cholera-Colonien sehr ähnlich, nur etwas weniger transparent sind.

Kartoffel-Culturen.

Es wurden dazu Kartoffelculturen in Reagenz-Röhrchen angelegt und zwar von Salat-Kartoffeln, deren Durchschnitt eine ganz schwach sauere Reaction zeigte.

Ausserdem wurden Kartoffeln bereitet, die vor der Sterilisirung mit 1%iger Sodalösung (Soda-Kartoffeln), und solche, die mit 1/4 %iger Essigsäure (Essigsäure-Kartoffeln) begossen waren, und schliesslich solche, die unmittelbar vor dem Einbringen in die Röhrchen 1/2 Stunde lang in 3%iger Kochsalzlösung (Kochsalzkartoffeln) gekocht waren. Diese verschiedenen Kartoffelsorten wurden inficirt und je eine Cultur Cholera und Berolinensis einer Temperatur von 37°, 25°, 17° ausgesetzt.

Gewöhnliche Kartoffeln.

37°	25°	17°		
Gelbl. feuchter Belag	Gelber feuchter Belag	Gelbl. feuchter Belag	Berolinensis	Nach dem 1. Tag
Ebenso, schwäch.	»	»	Chol.	
Gelblich feucht	Gelb schmierig	Gelb feucht	Berolinensis	Nach dem 2. Tag
Gelbbraun	Gelbbräunlich, schmierig	»	Chol.	
Unbrauchbar	Gelbbraun	—	Berolinensis	Nach dem 4. Tag
Schmierig gelbbraun	Gelbbräunlich	—	Chol.	

Soda-Kartoffeln.

37°	25°	17°		
Weisser, feuchter Belag	Weisslichgelber, feuchter Belag	Gelber, feuchter Strich	Berolinensis	Nach dem 1. Tag
»	»	Gelbweiss, feucht	Chol.	
Gelb schmierig,	Gelblichweiss	Gelber, feuchter Strich	Berolinensis	Nach dem 2. Tag
Gelbbraun schmierig	»	Gelbweiss feucht	Chol	

Nach dem 4. Tage unbrauchbar wegen einer Verunreinigung.

Essigsäure-Kartoffeln.

37°	25°	17°		
Weiss, feucht	Gelblich weiss, feucht	Gelblich weiss, feucht	Berolinensis	Nach dem 1. Tag
»	»	»	Chol.	
Dicker weiss-gelber Belag	Gelblich, feucht	Gelblich, matt-glänzend	Berolinensis	Nach dem 2. Tag
do. noch weisser	Weissgelb	Weislich, feucht	Chol.	
Schmierig gelb-braun	Weiss	—	Berolinensis	Nach dem 4. Tag
Weiss, matt-glänzend	»	—	Chol.	

Kochsalz-Kartoffeln.

37°	25°	17°		
Gelber, feucht glänzender Belag	Gelb, matt glänzend	Nichts deutlich sichtbar	Berolinensis	Nach dem 1. Tag
Ebenso, weniger	»	»	Chol.	
Gelbbraun feucht	Gelbbraun feucht	»	Berolinensis	Nach dem 2. Tag
»	»	»	Chol.	
Gelbbr. Centrum, weisser Hof	Weissgelb feucht	—	Berolinensis	Nach dem 4. Tag
Gelbbraun	»	—	Chol.	

Nach 48 Stunden fand Abimpfung von den Kartoffeln und Untersuchung im hängenden Tropfen statt. Ueberall fanden sich bewegliche Kommabacillen.

Zur sicheren Differential-Diagnose ist demnach die Kartoffel nicht zu gebrauchen.

B. Flüssige Nährböden.

Gewöhnliche, stark alkalische Bouillon wird vom Vibrio Berolinensis bei Zimmertemperatur und bei Bruttemperatur schneller und intensiver getrübt, als vom Cholera-Vibrio. Ein weisses, derbes Häutchen an der Oberfläche entsteht bei beiden etwa nach 48 Stunden Brutschrank.

In Pankreas-Bouillon[1]) ist das Wachsthum ein sehr intensives, noch intensiver als bei Cholera (bei Zimmer- und Brut-Temperatur).

Ein sehr günstiger Nährboden ist ferner das 1%ige Peptonwasser. (1% Pepton, 1% Kochsalz).

In sterilem Wasser trat nach 6tägigem Verweilen im Brutschrank weder bei Cholera noch bei Berolinensis eine wesentliche Trübung auf. Es wurde deshalb bei beiden nach dem sechsten Tage (bei 37 °) steriles 1%iges Peptonwasser aufgegossen. Nach abermals 48 Stunden war bei dem Berolinensis-Röhrchen Trübung aufgetreten, während das Cholera-Röhrchen klar blieb. Durch die Untersuchung im hängenden Tropfen waren in der Berolinensis-Cultur bewegliche Vibrionen nachweisbar, in der Cholera-Cultur nicht. Und auch nur die Berolinensis-Cultur gab die Indolreaction. Der V. Berolinensis hatte sich also in diesem Falle in sterilem Wasser sechs Tage (bei 37 °) fortpflanzungsfähig erhalten, der V. Cholerae nicht.

In steriler Milch trat bei beiden keine Gerinnung oder wesentliche Säuerung gegenüber der nichtinficirten Milch auf.

Es wurden ferner vier Gärungskölbchen mit Traubenzucker-Bouillon gefüllt, und nach der Sterilisirung zwei mit Berolinensis, zwei mit Cholera inficirt. Ein Paar dieser Kölbchen wurde in den Brutschrank gestellt, das andere bei Zimmertemperatur (20—22 °) gelassen. Eine Gasentwickelung wurde in diesen Kölbchen noch nach 11 Tagen nicht gesehen. Es zeigte sich in den ersten Tagen bei Berolinensis eine stärkere Trübung des Gesammtinhalts, bei Cholera eine schwächere Trübung, aber ein dichter Bodensatz an der Umbiegungsstelle der Kölbchen.

Im Liborius'schen Röhrchen (gefüllt mit Traubenzucker-Bouillon) nach Wasserstoffdurchleitung tritt nach 24 Stunden mässig starke Trübung, Anfang von Bodensatzbildung auf, nach

---

1) Karlinsky, Centralbl. f. Bact., 1890, Bd. VIII; 200 g Pankreas vom Rinde, nach Fettentnahme gewiegt und gewogen, werden mit 500 ccm Wasser begossen, 24 Stunden am kühlen Orte stehen gelassen, abfiltrirt, mit 20 g Pepton. siccum zu Bouillon gekocht, neutralisirt, sterilisirt.

drei Tagen sind keine lebendigen Vibrionen nachweisbar. Schliesslich wurden noch frische, rohe Eier nach der Hiller'schen Methode inficirt. Also Reinigung der Eier an der Spitze, Begiessen mit Sublimat, Abspülen mit sterilem Wasser, Trocknen mit sterilem Wattebausch, Oeffnen mit sterilem Instrument, Impfung mit der Nadel durch die ganze Länge des Eies und Verschluss der feinen Oeffnung mit sterilem Seidenpapier und Collodium. Nach drei Tagen sind durch das Plattenverfahren lebende Berolinensis-Keime nachzuweisen.

Zwei Resistenzversuche wurden folgendermaassen angestellt: Von einer 24stündigen Berolinensis-Bouilloncultur wurde eine Oese entnommen und zur Anlegung von Platten verwendet. Hierauf wurde die Bouilloncultur in ein Wasserbad mit der constanten Temperatur 60° C. gesetzt, hin und her bewegt, danach schnell abgekühlt und nun wieder eine Oese entnommen und zur Platte verwendet. Auf den Platten, die vor der Erwärmung angelegt worden, waren sehr zahlreiche Colonien, auf den Platten nach der Erwärmung keine einzige Colonie entstanden.

Ferner wurden Proben einer frischen Bouilloncultur entnommen, Petrischalen davon gegossen, und diese einer constanten Temperatur von 10° ausgesetzt. Auch nach drei Tagen war keine Spur einer Colonieentwickelung zu sehen.

Der V. Berolinensis ist also durch eine fünf Minuten lange Erwärmung auf 60° und bei 10° entwickelungsunfähig.

III. Nitrosoindol-Reaction.

Die Indol-Reaction ist zur Differential-Diagnose frischer V. Chol. as. und Vibrio Berolinensis nicht verwerthbar, da irgend ein constanter Unterschied in dem Auftreten der Reaction nicht besteht.

Zur Indolreaction wurde reine, stark verdünnte Schwefelsäure, in einzelnen Fällen auch Salzsäure verwendet. Das Pepton (Pepton. sicc. extr.) stammte von Hesterberg[1]) und zeigte sich

1) Berlin N. W., Luisenstr. 39.

so stark alkalisch, dass eine weitere Alkalisirung des Peptonwassers überflüssig wurde. Das Peptonwasser erwies sich als Nährboden und als Medium für die Reaction durch die stets positiven Resultate bei Cholera und Metschnikoff und die stets negativen bei vielen anderen Bacterien als zuverlässig. Steriles Peptonwasser erfährt durch Zusatz verdünnter Schwefelsäure keine Farbenveränderung.

Der Vibrio Berolinensis liefert nun, in Peptonwasser 24 Stunden bei 37° (aber auch bei Zimmertemperatur) gezüchtet, die Reaction ebenso schön, wie die entsprechende Choleracultur. In älteren Culturen ist die Farbe noch schöner. Einmal war schon eine schwache Reaction nachweisbar in einer Peptonwasser-Cultur des V. Berolinensis, die fünf Stunden lang bei Zimmertemperatur gestanden hatte. Auch in Pankreas-Bouillon ist die Reaction sehr schön, weniger gut und zuverlässig in gewöhnlicher Pepton-Bouillon. Vorzüglich ist sie, wenn auch etwas später auftretend, auf der Agarplatte, auf deren erstarrter Oberfläche eine Aufschwemmung des Vibrios ausgestrichen ist, und auf dem schräg erstarrten Agar. Auch im verflüssigten Gelatinestich ist sie hervorzurufen. Auf allen erwähnten Nährböden tritt die Reaction in wenigen Minuten ein und erreicht bald ihr Maximum. Einmal habe ich in einer drei Tage alten Pankreasbouillon-Cultur (37°), die eine prachtvolle Reaction geliefert hatte, nach Verlauf von einigen Stunden eine nachträgliche Entfärbung gesehen.

Sehr gut war auch die Reaction in dem keimfreien Filtrat einer Peptonwassercultur, das mit Hilfe eines Bacterienfilters hergestellt war. Züchtet man in diesem Filtrat noch den Vibrio etwa zwei Tage, so hat man damit das beste Object für die Indol-Reaction.

IV. Thierversuche.

Es wurde bereits oben erwähnt, dass das negative Resultat einer Impfung, die mit der vermeintlich in dem Wasser gefundenen Cholera angestellt wurde, zur Auffindung des Vibrios führte. Es kann hier hinzugefügt werden, dass der Vibrio ungiftig für Mäuse, Kaninchen, Tauben ist.

Es wurden von jeder Thiersorte zwei Thiere mit Berolinensis geimpft. Zwei weisse Mäuse und zwei Feldmäuse wurden mit je einer Oese einer 24 Stunden alten Agar-Cultur in einer Hauttasche der Rückenhaut inficirt, zwei Tauben mit je 1 ccm einer 24 stündigen Bouilloncultur in den Brustmuskel geimpft. Zwei Meerschweinen wurde je 1 ccm Bouillon, in dem eine Oese einer 24 stündigen Agarcultur aufgelöst war, intraperitoneal einverleibt, zwei anderen Meerschweinen je 2½ ccm einer 24 stündigen Bouilloncultur ebenfalls intraperitoneal eingespritzt. Und schliesslich werden noch zwei Meerschweinen je 5 ccm einer 24 stündigen Bouilloncultur per Schlundsonde gegeben, nachdem ihnen vorher 0,4 Tinct. opii intraperitoneal und 5 ccm einer 5%igen Sodalösung per Schlundsonde einverleibt waren. Ausserdem wurden noch zwei Kaninchen mit je 2 ccm einer 24 stündigen Bouilloncultur intraperitoneal geimpft. — Keines von diesen 14 Thieren starb oder zeigte wesentliche Krankheitssymptome.

Erwähnt werden muss noch das Resultat eines Thierversuches, der mit einer voll virulenten (Massaua)-Choleracultur angestellt wurde. Das mit Cholera intraperitoneal (eine Oese Agarcultur in 1 ccm Bouillon) geimpfte Meerschwein starb innerhalb 20 Stunden nach starkem Temperaturabfall. Zwei andere, mit Berolinensis intraperitoneal geimpfte (je zwei Oesen Agarcultur in 1½ ccm Bouillon) starben aber auch innerhalb 30 und 40 Stunden unter ähnlichen Erscheinungen. Am Darm war in allen drei Fällen keine Perforation zu entdecken. In dem getrübten Exsudat aller drei Fälle waren aber durch Ausstrich auf Agar neben Vibrionen Coccen nachweisbar, bei dem einen Berolinensis-Thier desgleichen. Diese Versuche waren also noch nicht ganz einwandsfrei.

In einem anderen Falle starb das Cholera-Meerschwein, dem eine Agar-Oese (in 1 ccm Bouillon aufgelöst) intraperitoneal injicirt war, innerhalb 20 Stunden und zeigte bei der Section ein in jeder Beziehung charakteristisches Bild. Ein zweites Meerschwein, mit einer Agar-Oese Berolinensis (in 1 ccm Bouillon aufgelöst) intraperitoneal geimpft, starb in derselben Zeit und

zeigte genau dasselbe Bild. Im Peritonealexsudat, sowie im Herzblut war durch Ausstrich auf Agar Berolinensis in Reincultur nachweisbar. Weitere Thierversuche müssen noch über die Pathogenität des Berolinensis näheren Aufschluss geben.

Leider war es mir durch meine Abreise von Berlin nicht möglich, diesen wichtigen Theil meiner Untersuchung weiter zu führen; wie mir aber mitgetheilt wird, sind im hygienischen Institute die Untersuchungen über die Virulenz des Vibrio weiter aufgenommen worden. Es hat sich herausgestellt, dass Berolinensis keine geringere Virulenz besitzt, als die hoch virulenten Massauahculturen. Ueber die weiteren Ergebnisse wird in diesem Archiv Mittheilung erfolgen.

V. Wasseruntersuchungen.

Es ist mir bei ferneren Untersuchungen des filtrirten und unfiltrirten Stralauer Wassers, sowie des unfiltrirten Spreewassers während des Monats Juli nicht geglückt, den Organismus nochmals zu finden.

Es wurden nur weiterhin Versuche gemacht, einem keimreichen Wasser absichtlich Berolinensiskeime und Cholerakeime zuzusetzen, in der Art, dass einem Kolben nur Berolinensiskeime, einem zweiten nur Cholerakeime, einem dritten beide Sorten zugesetzt wurden, während ein vierter als Controlkolben diente. Es kann gleich hier gesagt werden, dass sich die Cholerakeime auf keine Weise wiederfanden, während die Berolinensiskeime in den beiden Kolben, in denen sie zugesetzt waren, auf zwei Weisen wiedergefunden wurden.

Versuchsanordnung: Frisches Spreewasser war in steriler Flasche aufgefangen worden. Die weiterhin benutzten Kolben waren sterilisirt.

1. 100 Wasser + 1 % Pepton + 1 % Kochsalz.
2. 100 » + 1 » » + 1 » » + 1 Oese einer 24stündigen Cholera-Bouilloncultur.
3. 100 Wasser + 1 % Pepton + 1 % Kochsalz + 1 Oese einer 24stündigen Berolinensis-Bouilloncultur.

4. 100 Wasser + 1 % Pepton + 1 % Kochsalz +
   1 Oese Cholera
   1 Oese Berolinensis } einer 24stündigen Bouilloncultur.

Nach 21 Stunden Bruttemperatur wurde von der Oberfläche der 4 Kolben je 1 Oese abgeimpft und auf der Oberfläche einer in der Petrischale erstarrten Agarmasse ausgestrichen, ferner wurde noch eine Oese von jedem Kolben zum Zwecke der Anlegung von Gelatineplatten (1 Original, 2 Verdünnungen) abgeimpft. Die Agarschalen kommen in den Brutschrank.

24 Stunden nachher wurden die Gelatineplatten besichtigt:

Auf Platte 1[1]) (aus Kolben 1 stammend) finden sich keine choleraähnlichen Colonien, wohl aber Colonien, die genau wie die Berolinensiscolonien aussehen. Sie wurden abgeimpft und in 1 % Peptonwasser verpflanzt.

Auf Platte 2 (aus Kolben 2 stammend) zeigen sich wenige choleraähnliche und viele berolinensisähnliche Colonien. Von beiden Sorten werden einzelne abgeimpft und in Peptonwasser verpflanzt.

Auf Platte 3 sind keine choleraähnlichen, aber sehr viele berolinensisähnliche Colonien. (Abimpfung in Peptonwasser.)

Auf Platte 4 keine choleraähnlichen, viele berolinensisähnliche Colonien. (Abimpfung in Peptonwasser.)

Nach weiteren 24 Stunden wurde aus den Peptonwasserröhrchen eine Oese entnommen, die dann, falls der Inhalt des Röhrchens auf Zusatz reiner verdünnter Schwefelsäure die Rothreaction gab, wieder zur Anlegung von Gelatineplatten verwandt wurde. Es zeigte sich nun, dass von den Peptonröhrchen, die von den Platten 1 und 2 (also von den Kolben 1 und 2) stammten, keines die Indolreaction gab, dass also trotz des Auftretens von berolinensisähnlichen und choleraähnlichen Colonien diese beiden Organismen nicht gefunden waren. Wohl aber trat die Reaction in Peptonröhrchen auf, die von den Platten 3 und 4 (also aus

1) Von allen Platten waren nur die 2. Verdünnungen brauchbar.

den Kolben 3 und 4) stammten. Und das angeschlossene Platten verfahren ergab, dass der wiedergefundene Organismus nur der Vibrio Berolinensis war.

Resultat: Mittels des Gelatineplattenverfahrens war

in dem Kolben, dem zugesetzt war:	wiedergefunden worden:
Nichts	Nichts
Cholera	Nichts
Berolinensis	Berolinensis
Berolinensis + Cholera	Berolinensis.

Ausserdem waren berolinensisähnliche und choleraähnliche Colonien aufgetreten, die nicht von Berolinensis resp. Cholera herrührten.

An demselben Tage, an dem die Gelatineplatten besichtigt wurden, wurden auch die Agarschalen untersucht und verdächtige Colonien (nach Vibrionenbefund) in Peptonwasser verimpft. Am folgenden Tage wurden die Peptonröhrchen wie beim Gelatineplattenverfahren weiter untersucht. Das Resultat war genau das gleiche. Ich verweise daher auf das Resultat des Gelatineplattenverfahrens. In Kolben 1 und 2 fanden sich übrigens auch nach 48 Stunden weder Berolinensis noch Cholera.

Der Versuch hat also gezeigt, wie wichtig der Vibrio Berolinensis als Concurrent des Choleravibrio bei Wasseruntersuchungen werden kann.

Noch in einem andern Punkte war der Versuch lehrreich. Es war nämlich nach der letzten Abimpfung von den Kolben (also bei 1 und 2 nach 48, bei 3 und 4 nach 24 Stunden) zu dem Gesammtinhalt der Kolben mässig verdünnte, reine Schwefelsäure zugesetzt worden, und es entstand bei keinem eine Spur der Rothfärbung, trotzdem mit Sicherheit aus Kolben 3 und 4 der die Reaction liefernde Vibrio Berolinensis gezüchtet war. Es ist demnach das negative Resultat der so angestellten Indolprobe kein Beweis für das Fehlen von Organismen, die in Reincultur die Reaction liefern. Ich würde das nicht besonders erwähnt haben, wenn nicht noch in neueren Arbeiten auf die

so angestellte Indolreaction Werth gelegt worden wäre. So gibt Arens in einer Arbeit[1]), in der er über den Nachweis von Cholerakeimen im Wasser berichtet, als den einen seiner Beweise für das Wiederfinden der Cholerakeime an, dass die untersuchten Wasserkolben auf Zusatz reiner Schwefelsäure die Rothfärbung gaben. Und Stutzer und Burri[2]) führen auch die so angestellte Indolreaction (die allerdings bei Controlkolben desselben Wassers ausblieb) als Beweis für das Vorhandensein von Cholera an. Dass schon aus theoretischen Gründen der so angestellten Indolreaction kein Werth beizumessen sei, ist einleuchtend. Die salpetrige Säure kann von dem einen Organismus, das Indol von einem anderen producirt sein, und nur die gleichzeitige Production (bei Bruttemperatur) zeichnete Cholera und Metschnikoff aus. Jetzt, nachdem sich der neue Organismus im Wasser gefunden hat, besteht ein neuer Grund, die Indolreaction, die auf Zusatz von Schwefelsäure zu einem Wasser entsteht, als für Cholera absolut nicht beweisend anzusehen.

Ich habe denn auch schon vor der Auffindung des Vibrios in einem Kolben (100 Leitungswasser, 1 % Pepton, 1 % Kochsalz), der 24 Stunden bei 37° gestanden hatte, auf Schwefelsäurezusatz eine Rothfärbung erhalten. So wenig Werth aber dem positiven Resultat einer solchen Indolprobe beizulegen ist, genau so wenig ist es, wie schon bemerkt, dem negativen; es haben also auch die erwähnten Controlproben nichts Beweisendes.

Zum Schlusse hätte ich noch hinzuzufügen, was aus dem Funde für die Wasseruntersuchung folgt, und zwar für die Wasseruntersuchung auf Cholera, wenn sie nach dem erwähnten Koch'schen Schema erfolgt. Die erste Schwierigkeit bietet das Abimpfen von Wasserkolben. Nach Koch muss es geschehen, nachdem die Kolben 10, 15, 20 Stunden im Brutschrank gestanden haben, und zwar aus dem Grunde, weil man sehr wohl an dem einen Termin ein positives, an dem andern ein negatives

1) Münchener medicin. Wochenschr., 1893, Nr. 10.

2) Festschrift des niederrhein. Vereins f. öffentl. Gesundheitspflege und des Centralbl. f. allgem. Gesundheitspflege zu M. v. Pettenkofer's 50jähr. Doctorjubiläum.

Resultat haben kann. Es ist nun leicht auszurechnen, dass diese Termine bei einer längeren Untersuchungsreihe kaum einzuhalten sind.

Im Verlaufe des Verfahrens wäre aber nur ein Punkt, der eine Differential-Diagnose zwischen Cholera und Berolinensis zuliesse, der Thierversuch. Weder auf der Agarplatte, noch durch das mikroskopische Bild, noch durch die Indolreaction sind die Vibrionen zu unterscheiden. Aber auch der Thierversuch lässt, wie wir gesehen haben, im Stich. Uebrigens wissen wir von anderen pathogenen Organismen, z. B. von denen der Diphtherie, wie schwankend in ihrer Virulenz Laboratoriumsculturen, die nicht ab und zu den Thierkörper passiren, sind.

Inwieweit sich der Thierversuch bei Wasseruntersuchungen, die in choleradurchseuchten Orten angestellt werden, als zuverlässig erweist, bleibt abzuwarten. Zu bedenken ist hierbei, dass die Cholerakeime nicht unmittelbar nach dem Passiren des Körpers untersucht werden, sondern nachdem sie kürzere oder längere Zeit im Wasser gelebt und sich fortgepflanzt haben. Ob sie auch dann noch ihre volle, vorschriftsmässige Giftigkeit gegen Meerschweine besitzen, kann a priori nicht gesagt werden.

Wesentlicher aber als der Thierversuch scheint mir die Gelatineplatte zu sein, und ich glaube, dass die Gelatineplattencultur in das Koch'sche Schema als wesentlich wird eingefügt werden müssen; allerdings nicht am Anfang, sondern am Schluss des Verfahrens. Wer also nach dem Koch'schen Schema Cholera-Wasseruntersuchungen machen will, hat so zu verfahren: Das Ansetzen der Kolben, das Abimpfen, das Ausstreichen auf der Agarschale und das Uebertragen der choleraverdächtigen Colonien in Peptonwasser bleibt dasselbe. Nun ist aber von den Peptonröhrchen eine Oese zu entnehmen und, bei positivem Ausfall der Indolprobe, in Gelatine zur Herstellung von Platten zu übertragen. Zeigen die Platten nur Choleracolonien, so ist die Untersuchung beendet, wo nicht, so ist Abimpfung der choleraähnlichen Colonien, Uebertragung in Peptonwasser und nochmals Indolprobe nötig. Eventuell kann noch der Thierversuch angeschlossen werden.

Am Schlusse dieser Arbeit sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. M. Rubner und Herrn Priv.-Doc. Dr. C. Günther für ihre überaus gütige Anregung und Förderung meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Die beigegebenen Photogramme hat Herr Priv.-Doc. Dr. C. Günther, theilweise nach eigenen Präparaten, aufgenommen. Für seine viele Mühe, sowie für die liebenswürdige Ueberlassung der Platten bin ich ihm zu grossem Danke verpflichtet.

Curriculum Vitae.

Verfasser, Max Neisser, Sohn des Kaufmanns S. Neisser, geboren den 19. Juni 1869 zu Liegnitz, evang. Confession, besuchte das dortige städtische Gymnasium bis Ostern 1881, von da an das königl. Joachimsthal'sche Gymnasium zu Berlin, das er Ostern 1888 mit dem Zeugnis der Reife verliess. Er studirte im ersten Semester in Freiburg i/Br. Naturwissenschaften, von da an in Berlin und Freiburg i/Br. Medicin. Am 3. März 1890 bestand er zu Freiburg i/Br. das Tentamem physicum, vom 1. April bis 1. October 1890 genügte er in Freiburg i/Br. beim 113. Inf.-Reg. seiner Dienstpflicht mit der Waffe, vollendete im Januar 1893 in Freiburg i/Br. sein medicinisches Staatsexamen und bestand im März 1893 zu Berlin das Tentamen rigorosum.

Während seiner Studienzeit hörte er die Vorlesungen und nahm an den praktischen Uebungen folgender Professoren und Docenten theil:

Bardeleben, Bäumler, E. Baumann, Bulius, Emminghaus, Gerhardt, Goldmann, Hartmann, Hegar, Hertwig, v. Kahlden, Keller, Kirn, Klemperer, Kraske, v. Kries, L. Lewin, Manz, v. Noorden, Ritschl, Schottelius, Sonnenburg, Sonntag, Thomas, Virchow, Waldeyer, Warburg, Weismann, Wiedersheim, Wiedow, Willgerodt, van Wyhe, Ziegler.

Ausserdem war er 1892 2 Monate auf der Station des Herrn Prof. Dr. P. Fürbringer als Famulus thätig und hat vom April bis August 1893 im hygienischen Institut zu Berlin gearbeitet.

Allen seinen verehrten Lehrern spricht Verfasser seinen ergebensten Dank aus.

Thesen.

I.

Die Nitroso-Indol-Reaction allein ist zur Differential-Diagnose des Choleravibrio von Wasservibrionen nicht brauchbar.

II.

Die Euthanasie ist vom ärztlichen Standpunkte aus gerechtfertigt.

III.

Das Gesetz von der Constanz der Arten hat auch in der Bakteriologie bisher keine Widerlegung erfahren.

Druckfehler-Verzeichnis.

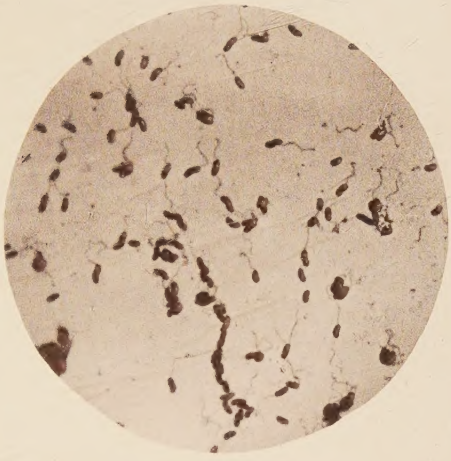
Es ist zu lesen:

auf dem Umschlag und dem Titelblatt Zeile 14 statt Arzt aus Liegnitz: Arzt, aus Liegnitz. Zeile 16 statt Dr. R. Tebens: Dr. R. Jebens,
auf Seite 5 Anm. 1) statt 1892: 1893,
» » 6 Zeile 4 statt der bei kleinen Proben, starke . . .: der bei kleinen Proben starke . . .,
» » 6 letzte Zeile statt Poriklo: Poniklo,
» » 6 Anm. 3) statt 1883: 1893,
» » 7 Anm. 6) statt 1843: 1893,
» » 7 Anm. 8) statt marium: marinum,
» » 8 Anm. 3) statt S. 430: S. 250,
» » 9 Zeile 9 zu lesen statt ein Vibrio: ein Vibrio[2]),
» » 9 ist als Anm. 2) zu setzen: Herr Prof. Rubner hatte die Güte, die erste Mittheilung von dem neuen Vibrio in der Hyg. Rundschau 1893, Nr. 16 zu veröffentlichen,
» » 10 Zeile 3 statt für weitere Sicherung: zur weiteren Sicherung,
» » 10 Zeile 7 statt in Kolben: in einem Kolben,
» » 10 Zeile 25 statt Peptonröhrchen, eine: Peptonröhrchen eine,
» » 11 Zeile 29 ist »glatt« zu streichen,
» » 13 Zeile 2 statt Agarplate: Agarplatte,
» » 16 Zeile 23 statt durch eine 5 Minuten lange: nach einer 5 Minuten langen,
» » 18 Zeile 29 ist hinter »desgleichen« einzufügen: im Herzblut,
» » 19 Zeile 11 statt Massauah: Massaua.

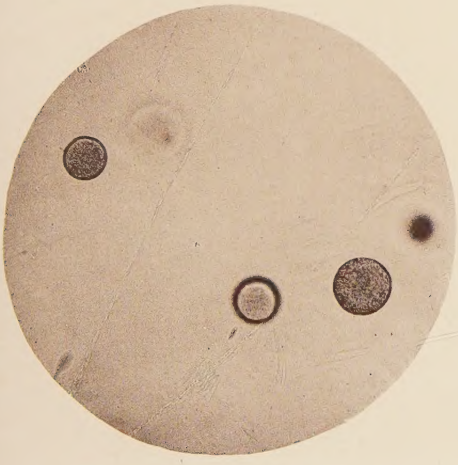
Ferner sind in einigen Exemplaren die Unterschriften unter den Photogrammen vertauscht, und zwar derart, dass

unter Bild 1 gehört die Unterschrift 4
» » 2 » » » 3
» » 3 » » » 2
» » 4 » » » 1.

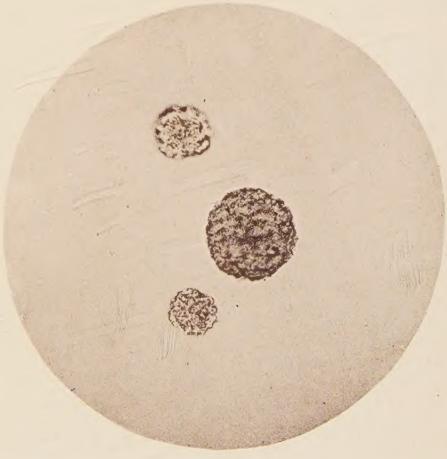
1. *Vibrio Berolinensis*, Ausstrichpräparat einer eintägigen Agarcultur, Fuchsinfärbung. 1000 : 1.



2. *Vibrio Berolinensis*, Agarcultur, Löffler'sche Geisselfärbung. 1000 : 1.



3. *Vibrio Berolinensis*, 2 Tage alte Gelatineplattencolonien. 100 : 1.



4. *Vibrio cholerae asiaticae*, 2 Tage alte Gelatineplattencolonien (unter denselben Bedingungen, wie die Colonien Fig. 3 gezüchtet). 100 : 1.

Lichtdruck von J. B. Obernetter, München.